S 733 m

FS
O-S 733m

BOUND 1939

HARVARD UNIVERSITY

LIBRARY

OF THE

MUSEUM OF COMPARATIVE ZOÖLOGY

70,386

EXCHANGE

JUN 4 - 1928

Spain. Ministerio de marina. Direccion general de pesca. No 8

MEMORIAS DEL INSTITUTO ESPAÑOL DE OCEANOGRAFIA
PUBLICADAS BAJO LA DIRECCIÓN DEL Pr. ODÓN DE BUEN

TOMO III. – MEMORIA 1.ª

70,376

INVESTIGACIONES

sobre el

tejido cartilaginoso de los selacios

por

Manuel Sánchez y Sánchez

MADRID
1920

JUN 4 - 1928

MEMORIAS DEL INSTITUTO ESPAÑOL DE OCEANOGRAFIA
PUBLICADAS BAJO LA DIRECCIÓN DEL Pr. ODÓN DE BUEN

TOMO III. – MEMORIA 1.ª

INVESTIGACIONES

sobre el

tejido cartilaginoso de los selacios

por

Manuel Sánchez y Sánchez

MADRID
1920

1893
X-3

SUMARIO

I. Introducción.

II. Material y técnica.

III. Observaciones personales:

a) Estudio de los condroblastos;

b) Estudio de la sustancia fundamental;

c) Fisiología del cartílago.

IV. Bibliografía.

Introducción

Reuno en el presente trabajo cuantas observaciones he podido llevar a cabo sobre la textura del tejido cartilaginoso de los selacios, las cuales han recaído, bien en la sustancia fundamental, bien en los condroblastos que en la misma se alojan.

En la sustancia fundamental (el exoplasma, según la teoría plasmodial de Hansen) describimos, con todo género de detalles, la disposición de las fibras conjuntivas que, cual tupido velo, encubren a los condroblastos, focos de actividad y de vida.

Los condroblastos (el endoplasma de Hansen) son objeto de un detenido estudio con el fin de llenar el vacío que se nota en este capítulo de la Histología comparada. En ellos hemos observado y analizado detenidamente el condrioma, el aparato de Golgi, cierto esqueleto filamentoso interno y las conexiones de unos condroblastos con otros, cuestión esta última del mayor interés, toda vez que, fundado en ella, se han lanzado hipótesis acogidas por algunos histólogos de renombre (me refiero, sobre todo, a la teoría syncycial de Hansen, que data del año 1899).

He recogido también buen acopio de detalles tocante a la histogénesis y nutrición del cartílago, con el propósito de formar una monografía lo más completa sobre la fina textura del tejido cartilaginoso de los selacios.

Inútil me parece advertir que para hacer mis estudios me he servido únicamente de los métodos creados por la Escuela Histológica Española, no sólo por patriotismo, sino también por entender que son, selectivamente considerados, muy superiores a todos los demás.

No quiero terminar estas líneas sin hacer constar mi profundo agradecimiento a todas aquellas personas que han contribuído a facilitar mi labor, entre las cuales es de justicia consignar, en primer lugar, al Director del Instituto Español de Oceanografía, D. Odón de Buen, que me proporcionó cuantiosos medios materiales, así como mi estancia, durante el verano pasado, en el Laboratorio de Vigo, en donde llevé a cabo estos estudios.

Material y Técnica

Siguiendo la costumbre de la mayoría de los investigadores que se dedican a trabajos biológicos, daremos indicaciones con la mayor precisión acerca de los métodos usados en nuestras investigaciones, así como también señalaremos las especies de selacios que hemos utilizado en nuestros estudios.

Aparte de los métodos ordinarios (hematoxilinas), que son imprescindibles para orientarse en la topografía de las regiones estudiadas, hemos usado los procedimientos dados a conocer recientemente por diversos histólogos españoles, habiendo empleado muy especialmente tres de entre ellos, a saber: el método tano-argéntico de Achúcarro (primera variante); el proceder de Cajal al urano-formol, y el reciente método de Río-Hortega al carbonato de plata amoniacal, propuesto por su autor para el estudio de la neuroglia y del tejido conjuntivo.

Queremos hacer resaltar, antes de pasar adelante, la importancia extraordinaria que tiene el formol como fijador de los finos detalles del protoplasma, y hacemos esto porque la fijación debe considerarse como la piedra angular, el fundamento de todo estudio serio citológico. El formol solo, o asociado a otras sustancias, permite sorprender toda suerte de granulaciones protoplásmicas en los condroblastos, así como también los esqueletos filamentosos internos y el aparato reticular de Golgi; pero lo verdaderamente extraordinario es que, gracias a él, se sorprenden los estadios fisiológicos o funcionales de pluralidad de organitos protoplásmicos. Desde este punto de vista, el formol es insustituíble, pudiéndose afirmar, como lo hace Nils Sjobring (1), que es para el cuerpo celular lo que el líquido de Flemming para el núcleo.

Hemos empleado en nuestras investigaciones, siguiendo el criterio de la mayoría de los zoólogos que se dedican al conocimiento de la textura de los animales, especies sumamente vulgares, tales como, por ejemplo, la centrina, el pez perro *(Scyllium canicula)* y la raya vulgar *(Raya clavata)*, y seguimos esta norma con el único propósito de que los detalles que descubrimos tengan fácil comprobación. Excusado es decir que todos los ejemplares han sido capturados por el personal de las campañas organizadas por el Instituto Español de Oceanografía.

El tamaño de las piezas destinadas a la fijación debe variar según el método de impregnación a que ulteriormente han de someterse; para ejecutar preparaciones con el método de Cajal, convendrá que las piezas sean de dos o tres milímetros de espesor; empleando los otros métodos podrá abusarse de dichas dimensiones, toda vez que el

---

(1) Ueber Formol als Fixierungsflussigkeit.—Anat. Anz. Bd .XVII.

cartílago es sumamente permeable, sin duda alguna debido al desarrollo extraordinario de las vías plasmáticas. Hemos utilizado embriones (raya), animales recién nacidos *(Centrina)*, o individuos adultos *(Pristiurus)*, habiendo utilizado lo mismo el cartílago cefálico que el vertebral.

Una vez dichos estos antecedentes, reseñaremos las diversas manipulaciones de los métodos técnicos empleados, indicando al propio tiempo la especie de estructuras que cada uno de ellos nos revela con más facilidad.

Primera variante del método de Achúcarro

Con esta modificación del método de Achúcarro, realizada por Del Río-Hortega (1) se ponen en evidencia los siguientes detalles estructurales del cartílago: morfología de los condroblastos con sus tenues prolongaciones; esqueleto fibrillar interno; condrioma, centrosoma; canales permeables y fibrillas de la sustancia fundamental.

Nosotros hemos empleado de preferencia material fijado en formol, el cual es preferible para estudiar la forma y conexiones de los condroblastos, siendo además muy ventajoso para impregnar las fibrillas conjuntivas de la sustancia fundamental. Sabido es de todos los que manejan este método corrientemente, que es necesario prolongar la acción del fijador durante mucho tiempo (por lo menos tres días), a fin de lograr los mejores resultados. Por nuestra parte, indicaremos que en unos ejemplares de *Centrina* capturados hace un año hemos logrado resultados sorprendentes por lo que atañe a los diversos detalles citológicos e histogénicos puestos en evidencia.

A ser posible, deben seccionarse las piezas histológicas con el microtomo de congelación, sobre todo si se tiene en cuenta que la inclusión en celoidina aminora los efectos de la plata amoniacal, determinando cierto estado granuloso en los protoplasmas. La inclusión en parafina es muy perjudicial y jamás debe emplearse.

Las manipulaciones del método se ejecutan del modo siguiente (Río-Hortega):

1.° Fijación, durante, diez días como mínimum, en formol al 10 por 100.

2.° Los cortes (obtenidos por congelación) se tratan por solución acuosa de tanino al 3 por 100, sometiéndolos a una temperatura de 50 a 55 grados por unos minutos.

3.° Se lavan en veinte centímetros cúbicos de agua destilada con *cuatro gotas* de amoníaco, hasta que recobren la flexibilidad y transparencias perdidas.

4.° Se pasan sucesivamente por tres pocillos conteniendo cada uno diez centímetros cúbicos de agua destilada y un centímetro cúbico de la solución de nitrato de plata amoniacal, hasta que tomen un color amarillo tostado.

---

(1) Río-Hortega.—«Varias modificaciones al método de Achúcarro».—*Boletín de la Sociedad Española de Biología*, 1916.

5.° Se lavan en agua destilada.

6.° Se sumergen en solución de cloruro de oro al *uno por quinientos*, manteniéndoles durante veinte a treinta minutos en la estufa a 40 o 45°.

7.° Con o sin lavado previo se fijan en hiposulfito de sosa al *cinco por ciento*.

8.° Se lavan en agua abundante.

Esta variante presenta, como hace notar Río-Hortega, aparte de lo rápido de su ejecución, su carácter de coloración metacromática «progresiva» siempre más ventajosa que la que exige una diferenciación.

Método de Cajal al urano-formol

Este valioso recurso de la técnica, que tantos descubrimientos ha proporcionado en manos de Cajal, de sus discípulos (Tello, Río-Hortega, Castro, Fañanás, nosotros) y de diversos sabios extranjeros, suministra irreprochables preparaciones en el cartílago de los selacios, poniendo de relieve, con gran claridad, pluralidad de detalles: aparato de Golgi, canales permeables, cápsulas, etc.

Recientemente este método, ha sido modificado por Da Fano; este autor, en vez de emplear el nitrato de urano, asociado al formol, como fijador, usa el nitrato de cobalto, en idénticas proporciones, obteniéndose, según dicho histólogo, más constantes resultados que con el fijador uránico (1).

Nosotros le aplicamos como le aprendimos de su autor, reforzando únicamente el fijador en algunas ocasiones. Es muy conveniente, como ha indicado Cajal, para el buen éxito del método, que las piezas sean de muy pequeño tamaño (tres milímetros).

La marcha de las operaciones es del siguiente modo:

1.° Piezas del cartílago cefálico de tres milímetros o menos de espesor se someten a la acción del siguiente fijador:

Nitrato de urano	2	gramos.
Formol	15	—
Agua.	100	—

En este baño conviene tener las piezas de doce a veinticuatro horas, según los detalles que se traten de poner en evidencia. El formol debe emplearse, según recomienda Cajal, exento de ácido libre; para ello, al formaldehido al cuarenta por ciento se añade gran cantidad de creta pulverizada.

2.° *Lavado*. Debe ser rapidísimo —unos segundos—; es una operación de gran cuidado, pues de ella depende, en gran parte, el éxito del método.

(1) Hemos empleado dicha variante, pero los resultados obtenidos no superan al método ordinario.

3.° *Nitratación.* Se prepara una solución de nitrato de plata al *uno y medio por ciento*; y en ella se depositan las piezas, en donde permanecerán por espacio de veinticuatro a cuarenta y ocho horas. Esta operación se realiza a la temperatura ambiente.

4.° *Lavado.* Transcurrido dicho tiempo se lavan por dos veces y rápidamente, las piezas histológicas en agua destilada. Este lavado es muy importante para el buen éxito del método.

5.° *Reducción.* Una vez realizada la operación anterior se sumergen los bloques en la siguiente fórmula:

Hidroquinona. . . .	2	gramos.
Formol	15	—
Agua.	100	—
Sulfito de sosa . . .	0,15	—

De ordinario echamos el sulfito sin pesada, esparciendo una pequeña cantidad, hasta que la solución tome color amarillo. En este reductor deben estar las piezas de ocho a diez horas, después de cuyo tiempo se deshidratan e incluyen en celoidina según la técnica ordinaria.

Conviene hacer constar, que las reacciones con este método, suelen ser múltiples, apareciendo a veces, en una misma preparación, gran número de detalles estructurales; en todo caso será conveniente, según hemos aconsejado en otras ocasiones, trabajar con gran constancia hasta lograr preparaciones que muestren un solo detalle con exclusión de todos los demás; cosa que se consigue cuando se domina el método.

Método del carbonato de plata amoniacal de Río-Hortega

Es un excelente recurso para la demostración de las prolongaciones de los condroblastos, según vió su propio autor en el cartílago de los cefalópodos; muestra, además, con gran claridad, los conductos permeables, fibrillas conjuntivas, etc.

Las diversas manipulaciones del método, son descritas por el histólogo español, del modo siguiente:

1.° Cortes obtenidos por congelación y cuidadosamente lavados, para eliminar de ellos todo vestigio de formol, sumérgense en la solución amoniacal de carbonato argéntico (1), sometiéndolos a una temperatura de 45 a 50° hasta que adquieran un color amarillo pardo, lo que se consigue en tres a cinco minutos, a la vez que el líquido ar-

(1) Para la preparación de este reactivo véase el trabajo de Río-Hortega: «Un nuevo método de investigación histológica e histopatológica». *Boletín de la Sociedad Española de Biología*, año VIII, 1918.

géntico (que se descompone) adquiere un tono grisáceo o parduzco si las secciones fueron insuficientemente lavadas.

(Efectúese el calentamiento a la lámpara de alcohol, poniendo el recipiente de cristal sobre un cartón de amianto, y procúrese que mientras se efectúa la coloración no estén inmóviles los cortes a fin de evitar que se tiñan desigualmente. Basta, para lograrlo, imprimir ligeros movimientos al vaso.)

2.° Se lavan las secciones en agua destilada, procurando que por agitación del líquido con el gancho de cristal, desaparezcan las arrugas o dobleces que puedan presentar. (No hay peligro de que el deficiente lavado origine precipitados; tras el lavado excesivo las coloraciones son más pálidas).

3.° Se sumergen en solución de formalina al 20 por 100 (previamente desacidificada con creta mantenida en suspensión durante algunos días).

La reducción es completa al cabo de medio minuto.

4.° Se lavan en agua destilada abundante.

La coloración está terminada; pero si se desea obtener preparaciones permanentes y de mejor belleza, a los tiempos fundamentales expuestos pueden añadirse otros, encaminados a hacer más pálida la coloración del fondo, dando resalte a las estructuras selectivamente coloreadas y a impedir que por la acción de la luz se ennegrezcan los cortes. Ello se consigue mediante un ligero lavado en hiposulfito de sosa (que fija y vira) o, mejor, aún con cloruro de oro.

5.° Se sumergé una parte de los cortes, en cloruro áurico al 1 por 500 calentando a unos 45°, prolongando su acción hasta que aquéllos adquieren tono violáceo.

6.° Trasládanse a la solución de hiposulfito de sosa al 5 por 100 durante un minuto; y

7.° Se lavan en agua destilada.

Los cortes adquieren en el baño de plata un color amarillento, más o menos oscuro, que se refuerza considerablemente en el formol, sin que, si aquellos no exceden de 15 micras, exista sobrecoloración. El virofijado en hiposulfito rebaja un poco el tono general y el oro da un tinte violeta, tanto más intenso cuanto más prolongada es su acción, siendo de notar que en ningún caso se originan precipitados, sino que las secciones quedan perfectamente limpias y transparentes.

Exposición de nuestras observaciones

Como hemos dejado dicho en otro lugar de nuestro trabajo, empleamos en nuestras investigaciones, lo mismo el cartílago craneano o cefálico, que el vertebral; a su vez nos hemos servido de embriones, animales recién nacidos o adultos, todo lo cual hemos ejecutado con el fin de realizar el estudio morfológico del tejido adulto a la vez que el proceso histogenético que le origina.

En lo fundamental, no varía la estructura del cartílago de los selacios de la de los otros vertebrados; sin embargo, existen ciertos detalles característicos del cartilago de los peces que estudiamos. Tal es, por ejemplo, la talla y morfología de los condroblastos, de cuyo asunto nos ocupamos a continuación.

Morfología de las células cartilaginosas y conexiones de las mismas
Teoría plasmodial de Hansen

. Estudiando las preparaciones obtenidas según cortes transversales al esqueleto cartilagíneo craneano de un selacio (como la centrina en nuestro caso) al nivel de la cápsula óptica y obtenida la coloración de las mismas con un método vulgar, tal como por ejemplo, la hematoxilina de Heidenhein llama nuestra atención, ante todo, la existencia de estratos diferentes de condroblastos, que alineados en filas, sensiblemente paralelas, limitan zonas diferentes que se separan con facilidad. En la figura 1 hemos representado este detalle de la topografía del cartílago cerebral; en ella aparecen los tres estratos siguientes: 1.°, zona de los pequeños condroblastos redondeados; 2.°, zona de los grandes condroblastos de la misma configuración; 3.°, zona de las células cartilagíneas polimorfas.

La talla de los condoblastos, varía también extraordinariamente en los selacios; así, al lado de los corpúsculos polimorfos de lá centrina, algunos de los cuales pasan de 30 micras, encuéntranse diminutas células (que miden 14 o 16 micras) en la capa de los pequeños condroblastos.

Nuestras observaciones, por lo que respecta a la citología de la célula cartilaginosa, han sido llevadas a cabo principalmente en los colosales condroblastos de que acabamos de hacer mención, lo cual es una ventaja extraordinaria para discernir los finísimos detalles citológicos que vamos a estudiar.

La forma de las células cartilaginosas en los selacios es muy variable. Encuéntranse células de tipos singulares que ofrecen gran interés para la histología comparada, como puede verse en las siguientes figuras, tomadas todas ellas de centrina (cartílago craneano).

En A (fig. 2, lám. I), representamos la simbiosis de dos condroblastos, prestos a separarse, y unidos solamente por ligero pedículo protoplásmico; el inferior, piriforme, está soldado al superior en sentido perpendicular, según la dirección del eje mayor de ambos, pudiéndose observar, además, la perfecta continuación de los gránulos del protoplasma. En B, hemos dibujado una forma de condroblasto sumamente frecuente; ofrece su cuerpo protoplásmico, voluminoso, en el que se aloja el núcleo, y superiormente prolongaciones, irradiando en sentidos diferentes. En C, finalmente, hemos copiado un condroblasto de tipo semilunar. A más de estas formas, hay otras dignas de especial mención y de las cuales hablaremos con ocasión de la citología de las mismas, pues intencionadamente hemos elegido tipos muy variados al reseñar la disposición del condrioma, esqueleto filamentoso, etc., con el fin de que el lector se dé cuenta cabal de la variedad enorme de condroblastos que existen en la capa polimorfa del cartílago cerebral de los selacios.

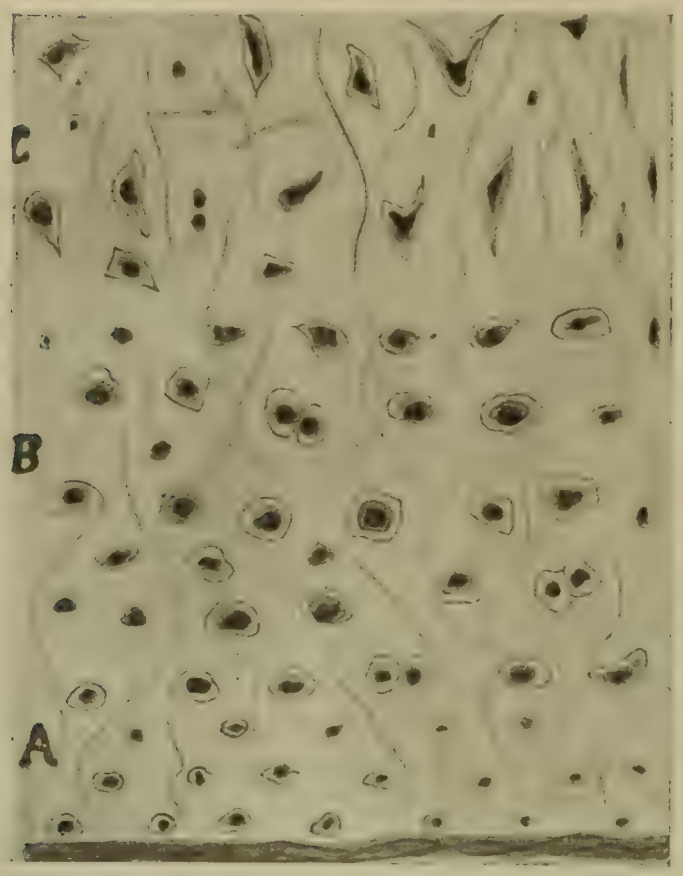

Fig. 1.—Corte transversal del cartílago craneano de centrina al nivel de la cápsula óptica. A, pequeños condroblastos redondeados; B, capa de grandes condroblastos; C, zona de corpúsculos polimorfos. (Coloración con hematoxilina de Heidenhein.)

El cartílago de los selacios, en un estado primitivo, está constituído únicamente por células, que ulteriormente han de dar lugar a la sustancia fundamental. Dicho cartílago recuerda completamente la textura de la formación esquelética cartilagínea del *Petromizon*, en el que los condroblastos conservan definitivamente este carácter primitivo; sus células, en los individuos adultos, están unidas directamente por intermedio de escasa sustancia fundamental, cual si se tratase de un epitelio. En otra fase, más avanzada del desarrollo, elaboran dichos condroblastos la materia fundamental, basófila, y aparecen incluídos en ella sin ninguna diferenciación: es un estado que se encuentra definitivamente, por ejemplo, en los cefalópodos, que según las investigaciones de muchos autores (entre los españoles, Cajal) sus células carecen de cápsulas. Por fin, en el límite de la evolución, disciérnense claramente las cápsulas, apareciendo entonces la textura de los condroblastos, según representamos en la figura 3 (lám. I).

Del análisis cuidadoso de numerosas preparaciones obtenidas en embriones y animales recién nacidos, de rayas, *pristiurus y centrinas* sacamos la consecuencia de que las cápsulas no establecen un límite absoluto entre la materia fundamental y el condroblasto, sino más bien representan el primer grado de la metamorfosis de la sustancia fundamental; a medida que el condroblastó elabora nuevas cápsulas se van borrando y homogeneizando las anteriores; diríase que pasa aquí, para servirnos de una expresión gráfica, lo que acontece en un estanque cuando se hace entrar en vibración el agua, que a medida que se producen nuevas hondas van desapareciendo las primitivamente constituídas.

Ello, no obstante, en piezas muy bien fijadas hemos sorprendido arcos o zonas concéntricamente colocadas, aunque muy pálidamente teñidas (hematoxilina de Heidenhein).

Cuando se tiñen los cortes de cartílago por la hematoxilina y se tratan ulteriormente por el ácido acético, todo se decolora menos las cápsulas recientes, que retienen el color (observación de Cajal).

Lo interesante para nosotros es saber que alrededor del condroblasto la sustancia fundamental difiere del resto, por su composición química, y afinidades para los reactivos, dando lugar a la formación capsular, la cual nosotros hemos impregnado con la primera variante del método de Achúcarro, que la hace destacar muy bien por las afinidades que presenta frente a la plata amoniacal (fig. 3).

En el cartílago de los selacios, como en el de los otros vertebrados, las células están contenidas cada una de ellas en su respectiva cápsula: mas como estas células pueden segmentarse, dando lugar a células hijas, resulta que al cabo de dicho proceso, en lugar de una célula se encontrarán reunidas un grupo de ellas constituyendo una familia de origen común, o sea un *grupo isogénico*, para servirnos de una feliz expresión de Renaut.

En la figura 3, hemos representado uno de dichos grupos tomado de la centrina; desciérnese, en torno de los condroblastos, una espesa zona capsular BB, que aparece impregnada con el método de Achúcarro (primera variante).

El análisis cuidadoso de la misma figura nos muestra el proceso, en virtud del cual se han originado dichas células cartilaginosas.

La forma de los grupos isogénicos depende de la dirección de los planos de segmentación de la célula madre y de los mismos planos en las células hijas. Cuando las divisiones celulares se hacen en múltiples direcciones y los planos de segmentación se orientan en una dirección cualquiera, se obtiene un conjunto celular isodiamétrico. Si los planos de dirección se orientan de una manera paralela, entonces resulta una serie longitudinal de células. En el primer caso se obtendrá un *grupo coronario*; en el segundo un *grupo axial*.

En nuestras preparaciones los condroblastos jamás se anastomosan entre sí por sus prolongaciones; éstas terminan a menudo en extremos afilados, los cuales se pueden perseguir, en todo su trayecto, sin que jamás se suelden a otras, ni tampoco a las fibrillas conjuntivas que las rodean.

La teoría plasmodial de Hansen

El análisis, cada vez más cuidadoso, del tejido cartilagíneo ha dado lugar a vivas discusiones entre los biólogos, y como consecuencia de ello, a diversas hipótesis, encaminadas a explicarnos la textura íntima de dicho tejido, y de entre todas ellas hay una, que por haber ejercido gran influencia entre diversos histólogos, vamos a analizar detenidamente: nos referimos a la doctrina syncycial del cartílago, defendida por Hausen (1) con ocasión de sus estudios acerca del fibro-cartílago de los discos intervertebrales. Ello, no obstante, esta hipótesis no está de acuerdo con nuestras investigaciones.

Según Hansen, que ha estudiado el desarrollo del tejido cartilaginoso intervertebral, las partes centrales de los discos son puramente conjuntivas, formadas de una especie de tejido mucoso, cuyas células están anastomosadas en una materia fundamental, rica en mucina, y en las que se originan fibrillas conjuntivas, en el interior mismo del cuerpo celular y de sus prolongaciones. Ulteriormente, la parte periférica del protoplasma se diferencia en una zona muy refringente, casi homogénea, que se continúa hasta las prolongaciones, el *ectoplasma*. La porción residual conserva el aspecto granuloso y la forma del elemento constituye el *endoplasma* o célula propiamente dichas en el sentido clásico de la palabra.

Durante algún tiempo —según Hansen— tanto el endoplasma como el ectoplasma colaboran en la producción de fibrillas colágenas; pero al cabo de cierto tiempo el endoplasma pierde dicha propiedad: desaparecen sus prolongaciones, las unas se disocian en granos, las otras se transforman *in toto* en ectoplasma. Finalmente el endoplasma se rodea de una cápsula cartilaginosa, diferenciada a espensas de la capa de ectoplasma, la más interna y reciente. Todo el resto del ectoplasma se transforma en fibrillas colágenas, que a poco a poco se destacan de la célula; puede ocurrir también que el endoplasma desaparezca totalmente transformándose en fibrillas y sustancia amorfa. Según estas ideas de Hansen, el cartílago hialino, no sería sino una especie de syncytium con ectoplasma común.

Studnicka, que ha defendido con mucho ardor la concepción plasmodial del cartílago, considera a la sustancia fundamental del mismo constituída por exoplasmas fusionados en una sola masa. Lo que corrientemente, y de acuerdo con la concepción clásica del cartílago, nosotros llamamos células en el adulto, no es otra cosa, sino la pequeña masa de plotoplasma nucleado, granuloso, que tiene el valor de un endoplasma. La célula total, *Gesammtzelle*, comprende un territorio de exoplasma, sobre el cual ejerce marcada influencia, y del cual es gradualmente separado, perdiendo sus límites y su individualidad.

Una vez dichos estos antecedentes, sobre la morfología y conexiones de los con-

(1) Hansen. — «Ueber die Genese Bundegewebsgrundsubstanz». Anat. Anz. Bd. XVI, 1899.

Fig. 2.—Tipos diferentes de condroblastos de la capa polimorfa de centrina. A, simbiosis de los condroblastos; B, condroblasto de tipo estrellado; C, condroblasto semilunar. (Primera variante del método de Achúcarro.)

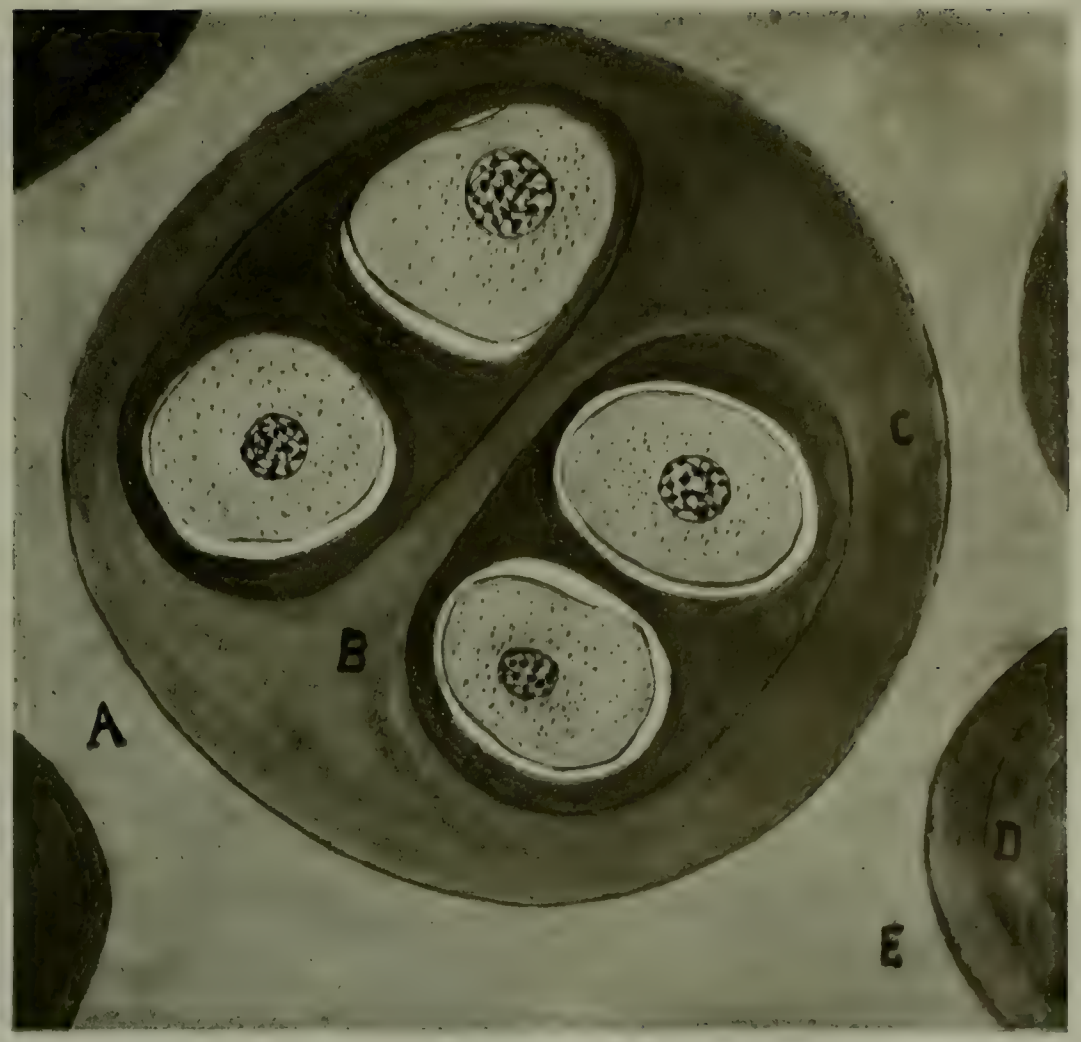

Fig. 3.—Crupo isogénico de condroblastos en la centrina. A, sustancia fundamental; B, cápsula; C, materia intercapsular; E, cápsula de un grupo vecino. (Coloración con el método de Achúcarro.)

droblastos de los selacios, vamos a ocuparnos del estudio detallado de diversas formaciones protoplásmicas (condrioma, esqueleto filamentoso, etc.) empezando por la disposición de las mitocondrias de la célula cartilaginosa.

A) El condrioma de los condroblastos

Son tan diversas las granulaciones descritas como mitocondrias, y tan variados los animales en donde se han estudiado, que se impone una revisión y crítica de dichos trabajos a fin de separar lo que es condrioma, de toda otra suerte de gránulos protoplásmicos.

Entre la multitud de granos, filamentos y cuerpos compactos, visibles algunos en fresco, y coloreados otros con los reactivos más variados descritos como condrioma, reina hoy una confusión, debido principalmente a que no dispone la técnica de un método lo suficientemente selectivo que coloree la mitocondria con exclusión de toda otra formación.

Como caracteres generales pueden señalarse; su disolución en el ácido acético; su refringencia extraordinaria y su apetencia por los colores básicos de anilina y por el nitrato de plata amoniacal (método de Achúcarro). En estos últimos años también han sido estudiadas, por algunos histólogos, mediante coloraciones vitales lo cual ha permitido apreciar los estados funcionales. A este género de investigaciones pertenecen las llevadas a cabo por Arnold, Nemiloff y Michaelis; los dos primeros emplean el azul de metileno, como colorante específico, mientras que el último se ha servido del verde de Janus *(safraninazodimethylaniline)*.

Del Río-Hortega, que ha estudiado la textura del tejido cartilaginoso de los cefalópodos, resume del modo siguiente los trabajos más importantes publicados sobre el tema, haciendo una crítica de los mismos, que nos parece oportuno transcribir.

«Arnold logró teñir con el rojo neutro y azul de metileno, gránulos de diverso grosor, algunos claviformes, repartidos difusamente en la célula. Al estudiar este sabio, en otro trabajo, la relación que existe entre los gránulos y los filamentos, supone que aquéllos están formados de un grano central (endosoma) y de una envoltura periférica (parasoma) y que muchos gránulos seriados están, aparentemente, reunidos en esa envoltura. En nuestras pesquisas —dice Río-Hortega— nos ha sido imposible confirmar estos detalles.

Renaut estudió los granos y vesículas de segregación existentes en las células cartilaginosas, y fué el primero en observar en la célula viva de los mamíferos (embrión de cordero) mitocondrias y condriocontos largos y flexuosos, situados en el plotoplasma perinuclear o en los tabiques que separan a las vacuolas. Formaciones casi idénticas a éstas han sido vistas por Flemming y Saussonow, en las larvas de salamandra; por Dues-

berg y Meves, en el embrión de pollo; por Dubreuil, en el feto humano, y por Daineka, en el embrión de cerdo.

Torraca observó la regeneración del cartílago de la cola del tritón notando que durante la mitosis predominan las mitocondrias sobre los condriocontos (lo contrario que en el reposo celular), y Pensa, que ha estudiado también el comportamiento del condrioma durante la mitosis, dice que en ninguna fase de ésta existe condensación de aquél.

Brodersen, finalmente, ha teñido con el azul de toluidina, en el cartílago fresco, granulaciones y anillos emplazados en la vecindad del núcleo, cuya naturaleza condriosómica no ofrece duda alguna. Dichos anillos son idénticos a los vistos por Heidenhein (1900) en los condroblastos de las larvas de salamandra y a los que nosotros hemos observado en las células conjuntivas del embrión del pollo, de las cicatrices y de los fibromas.

Verosímilmente pertenecen también al condrioma las formaciones filamentosas vistas por Lôwenthal, Smirnow, Flemming, Henneguy y Heidenhein (pseudocromosomas). En cambio, los granos y filamentos, dispuestos en grupo paranuclear, simulando apara-

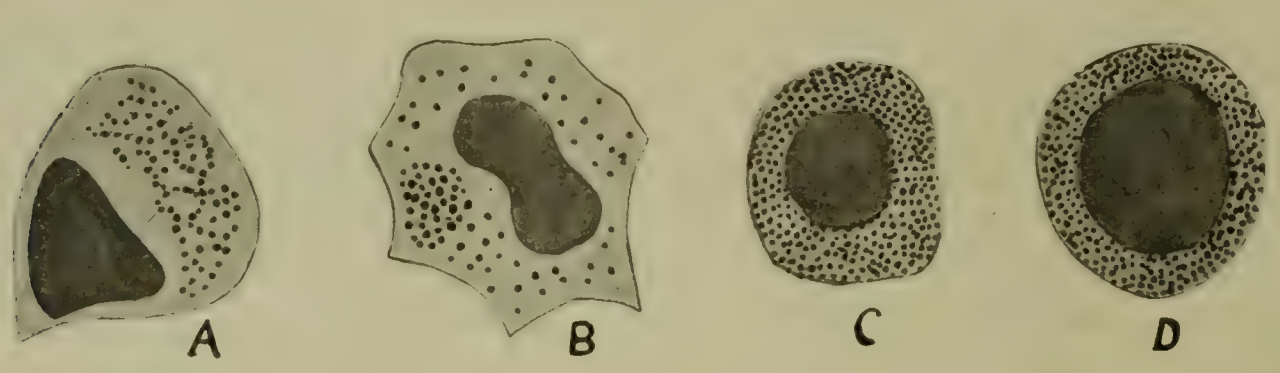

Fig. 4.—Aspecto del condrioma en los pequeños condroblastos del cartílago cefálico de centrina mostrando exclusivamente granulaciones redondeadas

tos reticulados que Arnold observara en la célula viva con el método de Prudden, deben tener distinta significación. Tampoco pueden figurar en el condrioma los filamentos cromófilos anastomosados que Retterer, 1907, incluye entre las mitocondrias y condriocontos de Benda y Meves, y que, como se sabe, son incapaces de formar retículos.»

En los condroblastos de los selacios es preciso separar el condrioma de los corpúsculos polimorfos, del de los elementos redondeados. Se impregnan dichas formaciones admirablemente con la primera variante de Achúcarro, destacando por su refringencia extraordinaria del resto protoplásmico. La talla de dichos gránulos varía no sólo según las especies de condroblastos, sino también en el interior de cada célula; los elementos más grandes tienden a emigrar de las proximidades del núcleo, haciéndose, con cierta frecuencia, periféricos.

En la figura 4, hemos representado aspectos diferentes del condrioma de los pequeños corpúsculos redondeados del cartílago cefálico de centrina. En A están localizados en la amplia zona de protoplasma, mientras que en el resto no parece existir ninguno. El condroblasto B, en el cual el núcleo ocupa una posición central, hállanse los gránulos mitocondriales, que son escasos, esparcidos por todo el protoplasma, con cierta uniformidad. C y D son dos condroblastos de núcleo voluminoso con gránulos cromáticos, sumamente abundantes, ofreciendo un aspecto característico.

En la figura 5, representamos la disposición del condrioma en los grandes corpúsculos polimorfos, en los cuales cabe observar, bien mitocondrias, bien condriocontos, con cierto parecido estos últimos a los descritos por Del Río Hortega en su trabajo sobre la textura del cartílago de los cefalópodos. En los condroblastos A y C se han representado los condriocontos, que aparecen en la zona más amplia de protoplasma, mientras que en el B, que tiene la forma de una fibra muscular lisa aparecen únicamente granulaciones redondeadas.

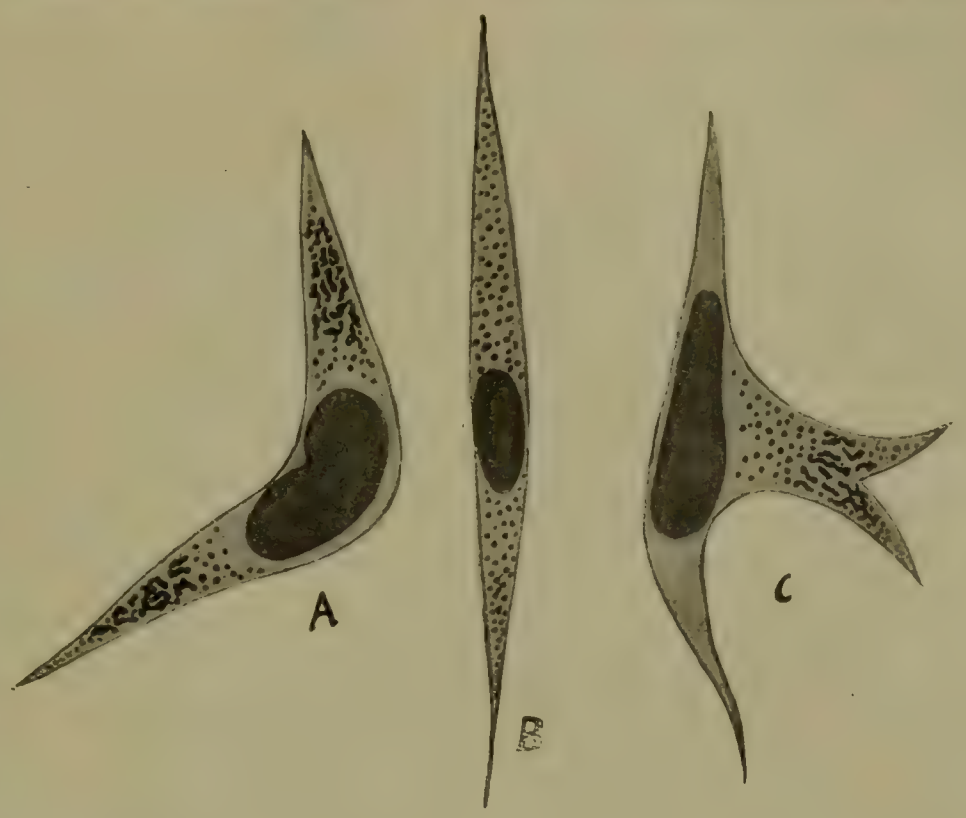

Fig. 5.—Modalidades de las mitocondrias en tres condroblastos de la zona polimorfa de centrina recién nacida. A, condroblasto de dos prolongaciones con núcleo arriñonado; B, condroblasto en forma de fibra muscular lisa; C, condroblasto de forma irregular. (Primera variante del método de Achúcarro.)

Según Arnold las mitocondrias centrales se colorean más fácilmente, lo cual es debido, en sentir de este sabio, a una especie de maduración. Respecto al origen del condrioma, las múltiples preparaciones que hemos ejecutado en embriones y animales adultos, nos inclinan a creer, con la mayoría de los investigadores, que son elementos que se forman y desaparecen dentro del protoplasma, sin que jamás emigren del núcleo como sostienen Galeotti y Sjöbring.

Es muy probable, por otra parte, que tanto las mitocondrias como los condriocontos no estén aislados, sino unidos por una sustancia especial en complejos filamentosos que deben variar según el estado funcional de la célula, idea esta última que sostienen sobre todo aquellos investigadores que se han servido de coloraciones vitales. Estos complejos filamentosos deben variar según el estado funcional de la célula.

Según Río-Hortega el aumento de longitud de los condroblastos no se verifica por alineación de corpúsculos diminutos, sino que se debe al crecimiento, por uno o por los dos extremos de un solo condriosoma primitivo, de manera análoga a lo que ocurre en el tejido conjuntivo embrionario, donde los condriocontos, provistos también de botones de crecimiento, adquieren desmesurada longitud al recorrer las prolongaciones protoplásmicas.

B) El aparato endocelular de Golgi de los condroblastos

Entre los múltiples organitos descritos en la célula por los histólogos, hay unos de superior rango orgánico que tienen cierta autonomía; pueden reaccionar a los estímulos exteriores de cierto modo, están dotados de poderes para asimilar y crecer, y en muchas ocasiones para reproducirse; en una palabra, tienen vida propia, siquiera subordinada al complejo orgánico celular. Dentro del grupo formado por dichos organitos, se incluye el llamado aparato endocelular de Golgi (trofospongio, aparato reticular, aparato interno, red interna; aparato de Golgi-Kopsch, intestino endocelular, aparato de Golgi-Holmgren, etc.), el cual, según Cajal, debe estimarse como «factor anatómico constante del protoplasma de todas las células vivas, así embrionarias como adultas, separándose perfectamente por sus propiedades químicas, forma y evolución, de las mitocondrias y demás organitos integrantes de la célula».

Son muy numerosas las investigaciones llevadas a cabo en estos últimos años sobre el aparato reticular, sobre todo por las escuelas de Cajal, Holgren y Golgi, y si bien se ha avanzado bastante en el conocimiento de la morfología del mismo, no acontece otro tanto respecto a su fisiología, por cuanto puede decirse que apenas tenemos datos positivos sobre el papel fisiológico encomendado a tan singular formación protoplásmica. Sabemos, no obstante, que durante la mitosis las trabéculas en que se disocia, sufren ciertos cambios dando lugar al fenómeno de la dictioquinesis (Perroncito, Deineka, Fañanás), que la sustancia que le forma es muy ávida de las sales de plata y del ácido ósmico, que en las glándulas de los animales sometidas a diversas sustancias tóxicas se destruye (Battestessa, Cajal), que en el embrión tiene ya una orientación determinada que se conserva en el adulto si las células no han sufrido emigraciones; que cuando la célula tiene que verificar un proceso de síntesis química pujante se hipertrofia (Cajal), y, finalmente, que en determinados procesos degenerativos y enfermedades se destruye. (Cajal, Tello, Fañanás, Verson, Río Hortega, Savagnoni).

En sentir de Cajal, «en el estado actual de la ciencia, resulta aventurado el empeño de puntualizar la especie de actividad fisiológica encomendada al aparato de Golgi; parece en todo caso indudable, según han sugerido muchos autores, que dicha actividad atañe a la esfera nutritiva; quizás al orden de las transformaciones energéticas».

El ánimo se siente arrastrado a congeturar que allí se elabora una materia cuyas propiedades químicas no son tan sólo indispensables a las actuaciones proporcionales de la célula, sino al proceso de asimilación y crecimiento protoplásmicos.

No podemos entrar en detalles sobre la multitud de trabajos que hacen referencia al aparato de Golgi, únicamente nos referiremos a los histólogos que se han ocupado de dicho órgano en el tejido cartilaginoso, transcribiendo las siguientes ideas de nuestro maestro el Dr. Cajal (1).

«El aparato reticular de la célula cartilaginosa —dice dicho sabio— ha sido señalado por Bergen en el cartılago traqueal del gato y por Pensa en el cartílago traqueal y osificante. Preséntanlo estos investigadores como una red de trabéculas granulosas y varicosas localizadas cerca del núcleo, al cual circundan parcialmente.

Del aparato reticular de las células cartilaginosas hipertrofiadas, próximas a la línea de osificación, nos da noticias Pensa que ha debido teñirlo con el método de Golgi. Según dicho autor el citado aparato se hipertrofia al compás del incremento de actividad del corpúsculo vacuolado. Los cordones argentófilos se espesan, desprendiéndose por el protoplasma para rodear nuevamente al núcleo.

Cerca del hueso le ha parecido sorprender elementos provistos de retículo alterado; sus cordones, festoneados y acodados, podrían fragmentarse. No se atreve, sin embargo, a afirmar rotundamente la decadencia y destrucción del aparato de Golgi; porque cabría estimar dichas formas desviadas como efecto de imperfecta impregnación. Pensa ha teñido también las mitocondrias de estos condroblastos hipertrofiados y de acuerdo con Dubreil las presenta igualmente más gruesas y largas que de ordinario, participando así de la sobreactividad fisiológica de que es teatro el protoplasma.

Nuestras observaciones confirman en lo esencial la descripción de Pensa; en nuestros preparados, efectuados con el proceder del nitrato de plata reducido, resulta perfectamente destacado el retículo, apareciendo facilísimo de estudiar. Nada de particular nos ofrecen los cortes en la zona proliferante, salvo que, muy a menudo, el retículo es pequeño y reside en la región centrosomática del protoplasma, como ha defendido Bernetti.

Pero en cuanto se llega al *cartílago seriado* donde los conductos se aprietan y aplastan en sentido normal a la línea de osificación, adviértese que el citado aparato se enriquece en cordones, y se aparta, por lo común a un lado o extremo del corpúsculo. Enfocando los elementos en vías de división, échase de ver que, acabada la partición nuclear, los dictiosomas se sitúan ecuatorialmente para distribuirse después en los polos contrapuestos de cada célula hija».

En nuestras preparaciones de Raya (fig. 6), distinguiremos, ante todo, dos clases de aparatos reticulares; unos, que se alojan en los pequeños condroblastos, constituí-

(1) Consúltese la monografía del Dr. Cajal titulada *Algunas variaciones fisiológicas y patológicas del aparato reticular de Golgi*, que es, sin duda, el mayor avance al conocimiento de dicho órgano celular.

dos por una o dos trabéculas acopladas al núcleo; a esta categoría pertenecen los representados en E, D y F. Los otros, que exhiben formas más complicadas, se alojan en los grandes condroblastos, están constituídos por varias trabéculas, que forman re-

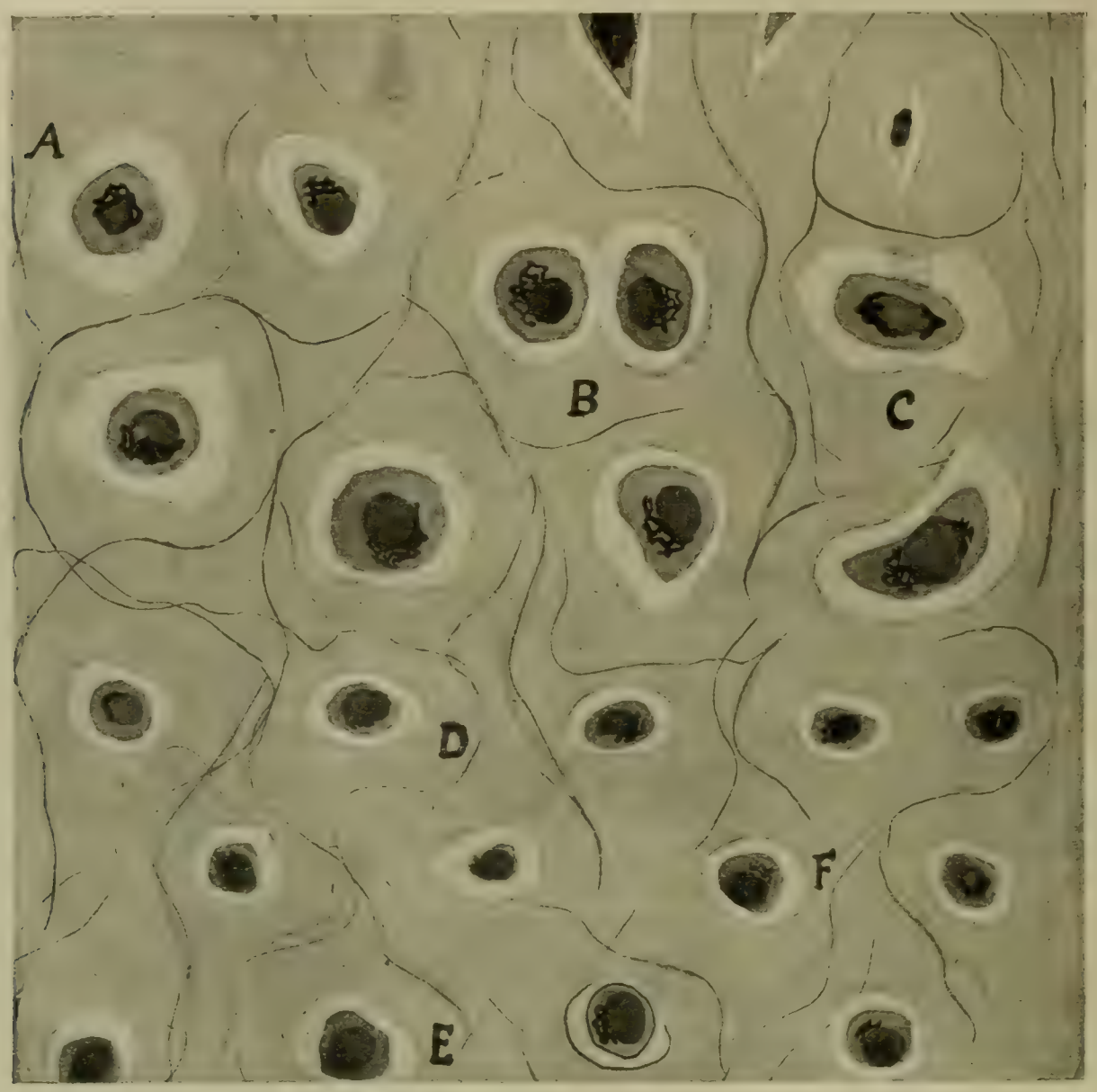

Fig. 6.—Aparato reticular de Golgi de los condroblastos del cartílago cefálico de raya. A, pequeño retículo en torno del núcleo; B, retículo de delicadas mallas en dos condroblastos recién formados; C, aparato de Golgi, sumamente simplificado, en torno de un núcleo fusiforme

tículos sumamente elegantes y yacen, por lo común, a un lado del núcleo (A y B); no obstante, pueden sorprenderse algunos como el C, polarizados en ambos extremos de la masa nuclear.

Esqueleto filamentoso protoplásmico

En las preparaciones ejecutadas con el método de Achúcarro, sorpréndese en ocasiones cierta singular formación protoplásmica que debe ser homologable a los esqueletos de la célula de Schwann, descritos por Cajal y nosotros en los tubos nerviosos. También presenta singular parecido con los formaciones estudiadas por Río Hortega en los condroblastos de los cefalópodos, y acaso no sea cosa distinta de la formación protoplásmica descrita por *Löwenthal* el cual estudia (en la célula cartilaginosa) un aparato filamentoso que debe ser separado de los filamentos protoplásmicos descritos por Flemming Según dicho autor, trátase de un pelotón de filamentos anastomosados, pudiendo existir a veces varios dentro de una misma célula.

Fig. 7.—Aparato filamentoso endoplásmico de tres condroblastos de la zona polimorfa del cartílago cefálico de centrina. (Método de Achúcarro.)

Del Río Hortega ha visto, con ayuda del método de Achúcarro, un haz o mechón de fibrillas ensortijadas, que yace en una zona más o menos extensa de protoplasma, vecina al núcleo, por lo general, donde dibuja curiosas figuras. Unas veces —dice dicho histólogo—, se ve un delgado fascículo que se deshilacha en torno del núcleo; otras, una madeja con hilos muy abundantes y concéntricos que imitan un nido, y otras, haces más pequeños, que simulan anillos irregulares. Según el mismo histólogo, dicha formación debe interpretarse como resultado de la tendencia del espongioplasma a crecer y desenvolverse con cierta autonomía del resto celular.

En nuestras preparaciones sorpréndese, según representamos en la figura 7, diversas clases de esta singular formación protoplásmica. En A, aparece un filamento único, doblado, dando lugar a una trabécula superficial y otra profunda, sin que en él pueda distinguirse señal ninguna de soldadura de otros filamentos; en cambio en B y C échase de ver su textura fibrillar, pues en los extremos se nota claramente la estriación del mismo. Dicho aparato, no parece tener nada que ver con el condrioma, ni tampoco con los filamentos de origen centriolar descritos por Del Río Hortega.

II. La sustancia fundamental del cartílago

Según resulta de los memorables trabajos de Mörner y Schmiedeberg la condrina no tiene una existencia real, como se admite corrientemente, sino que la sustancia fundamental del cartílago está constituída por verdadera colágena, la cual no suministra gelatina por cocción sino cuando va asociada a otras substancias especiales.

Schmiedeberg establece que son las combinaciones variadas de un ácido sulfoconjugado (ácido condroico-sulfúrico) con albuminoides (el condromucoide de Mörner), combinaciones incorporadas en esta materia fundamental, hasta tal punto, que pueden quitarse de ella por una especie de descondrificación; de igual modo que se suprimen las sales calcáreas del hueso por decalcificación.

Según Hansen, estas sustancias condromucoides, embebiendo la colágena hialinizan y enmascaran su estructura, que es francamente fibrillar.

Nuestras observaciones sobre el cartílago hialino de los selacios, nos permiten estudiar las fibrillas conjuntivas, los canales permeables y las relaciones que guardan todos estos elementos entre sí y con los condroblastos.

Aparte de las células conjuntivas o fibras que se hallan en el precartílago o cartílago, la materia fundamental elaborada por los condroblastos es perfectamente amorfa, siendo atributo de la misma su homogeneidad y su translucidez relativa; frente a los colores de anilina ofrece el carácter de una materia basófila.

Según Wolters, en el cartílago adulto se pueden diferenciar dos clases de sustancias, con situación diferente: una de ellas está rodeando inmediatamente a las células o a los grupos isogénicos, presentándose bajo la forma de aureolas o de esferas, las cuales tienen una existencia real,según Mörner, ya que se las puede aislar por maceración en el ácido crómico; dichas esferas, *Chondrinballen*, están constituídas por condromucoide y ácido condroico. La otra sustancia está situada entre las fibrillas que corren entre los glóbulos, siendo el albumoide o materia interglobar, la que la constituye.

En un cartílago embrionario, las trabéculas de albumoide deben aparecer al mismo tiempo que las fibrillas conjuntivas, las cuales son anteriores a los globos condroicos.

Nuestras observaciones con la primera variante del método de Achúcarro prueban que las fibrillas conjuntivas en el cartílago de los selacios, presentan un desarrollo extraordinario, según hemos representado en la figura 8 (lám. II).

Surcan, en efecto, la materia fundamental del cartílago paquetes o fajas dispuestos de mil modos, sin que podamos afirmar si las fibrillas que los constituyen están sueltas o ligadas por una materia particular, como defienden ciertos autores.

Dichos paquetes de fibras son longitudinales, transversales u oblicuos, siendo de una longitud extraordinaria; hay fajas de fibras que atraviesan de un borde a otro todo el cartílago del esqueleto cerebral de los selacios, según hemos representado en la figu-

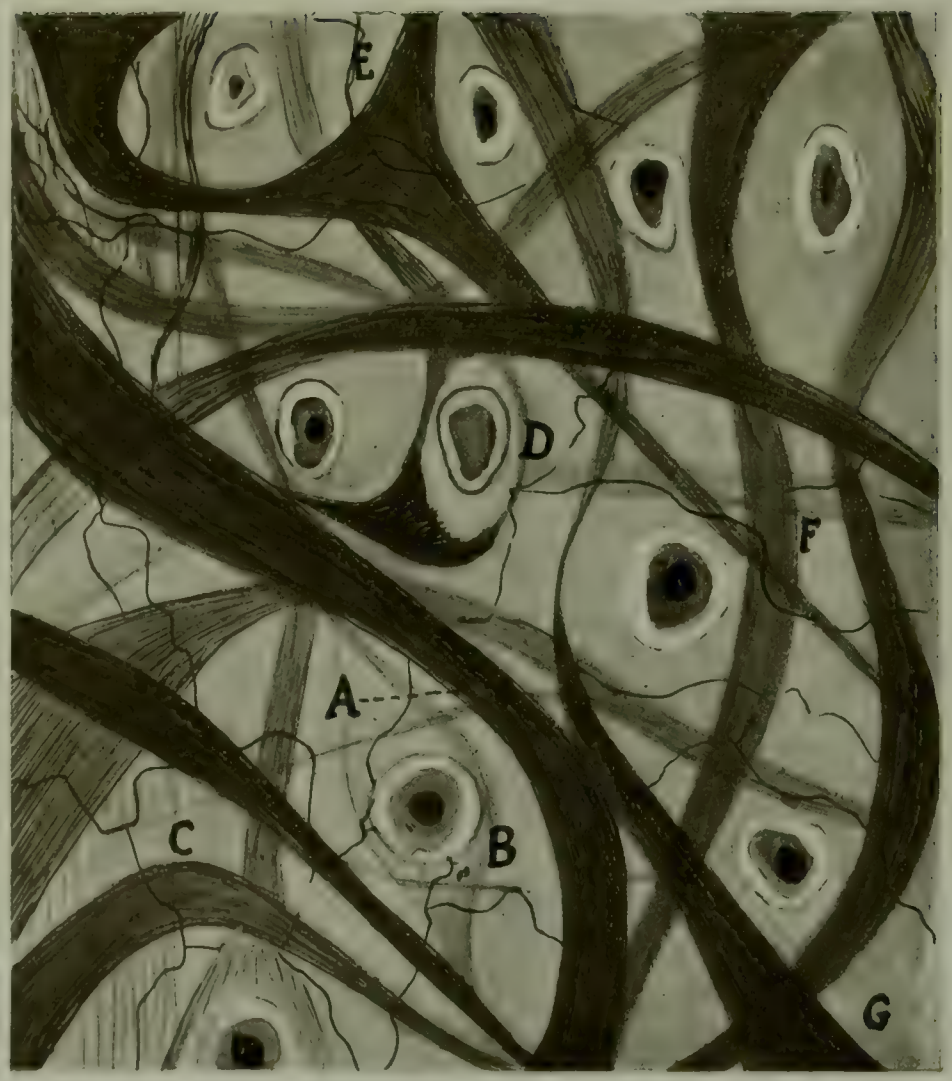

Fig. 8.—Fibras conjuntivas que surcan en múltiples sentidos la sustancia fundamental del cartílago. A, haz superficial de numerosas fibrillas; B, paquetes de tenues fibrillas; D, fibrillas en torno de un condroblasto; E, grueso paquete triangular de fibrillas; F, paquete que atraviesa la preparación a lo largo. (Primera variante del método de Achúcarro.)

Fig. 12.—Aspecto de conjunto de los condroblastos y de sus canales plasmáticos en el cartílago craneano de centrina recién nacida. (Método de Río-Hortega.)

ra mencionada. Existen fajas conjuntivas indivisas, mas otras se ramifican y dan lugar a otros paquetes de menor categoría, pudiéndose apreciar con cierta frecuencia espesamientos o láminas triangulares, como *E*, formadas por el entrecruzamiento o confluencia de varias de dichas fibrillas.

Es de especial interés el estudio de las relaciones que los haces mantienen con los condroblastos, a los cuales, en ocasiones, se aproximan rodeando a sus cápsulas o pasando tangentes a las mismas, como acontece en *D* y *F*. También es digno de llamar la atención el hecho de que algunos paquetes, en su proximidad al borde del cartílago, es decir, en la región próxima al pericondrio, se deshilachan, dando lugar a figuras en forma de abanico, sumamente caprichosas.

Histogénesis de las fibras

Una de las cuestiones que más se discuten hoy por los biólogos es la de saber el origen de las fibrillas conjuntivas y colágenas, habiéndose hecho numerosas observaciones en los embriones de los vertebrados. Como nosotros ejecutamos preparaciones en embriones de selacios, nos parece oportuno dar alguna indicación tocante a este asunto, sin que, por otra parte, pretendamos resolver el arduo problema.

Todas las opiniones que se han emitido sobre la histogénesis de las fibras, pueden agruparse del modo siguiente:

A) Las fibrillas provienen de células, las cuales experimentan una metamorfosis complicada, alargándose primero en huso y descomponiéndose en fibrillas en sus extremidades (Schwann, Robin, etc.).

B) Las fibras nacen por una especie de desagregación fibrillar, longitudinal, de una sustancia homogénea intercelular preexistente (Henle, Reichert, Rollet).

Según V. Ebner, que ha realizado sus estudios en los ciclostomos y en los ganoideos, las fibras pueden crecer y multiplicarse sin el concurso de ninguna célula.

Hansen admite que, durante corto tiempo, lo mismo el ectoplasma que el endoplasma, pueden contribuir a la formación de fibrillas; lo que ocurre es que el endoplasma pierde muy pronto esta propiedad, por rodearse de una cápsula y aislarse, entanto el ectoplasma se transforma todo él en fibrillas.

Studnicka atribuye la formación de las fibras al protoplasma celular, bien directamente, bien por intermedio de un exoplasma. En todos los exoplasmas, lo mismo que ellos sean delgados o espesos, pueden desarrollarse fibrillas.

Kervily, que investigó el origen de las fibras elásticas en el cartílago del aparato respiratorio, sirviéndose del método de Cajal, admite, con Hertwig, que los condroblastos pueden dar lugar en ciertos casos a las fibrillas de la materia fundamental. Siguien-

do una fibra —dice dicho autor— se puede ver que ella está en contacto con varios condroblastos y algunas veces las fibras se forman en el límite de separación de dos condroblastos vecinos.

Las investigaciones realizadas por nosotros han recaído sobre diversos embriones de *raya*, habiendo empleado para perseguir la diferenciación fibrillar la primera variante del método de Achúcarro, que suministra imágenes irreprochables de la génesis y evolución ulterior de dichas fibrillas. De estas preparaciones hemos obtenido los dibujos de las figuras 8 y 9, que ilustran esta parte de nuestro trabajo.

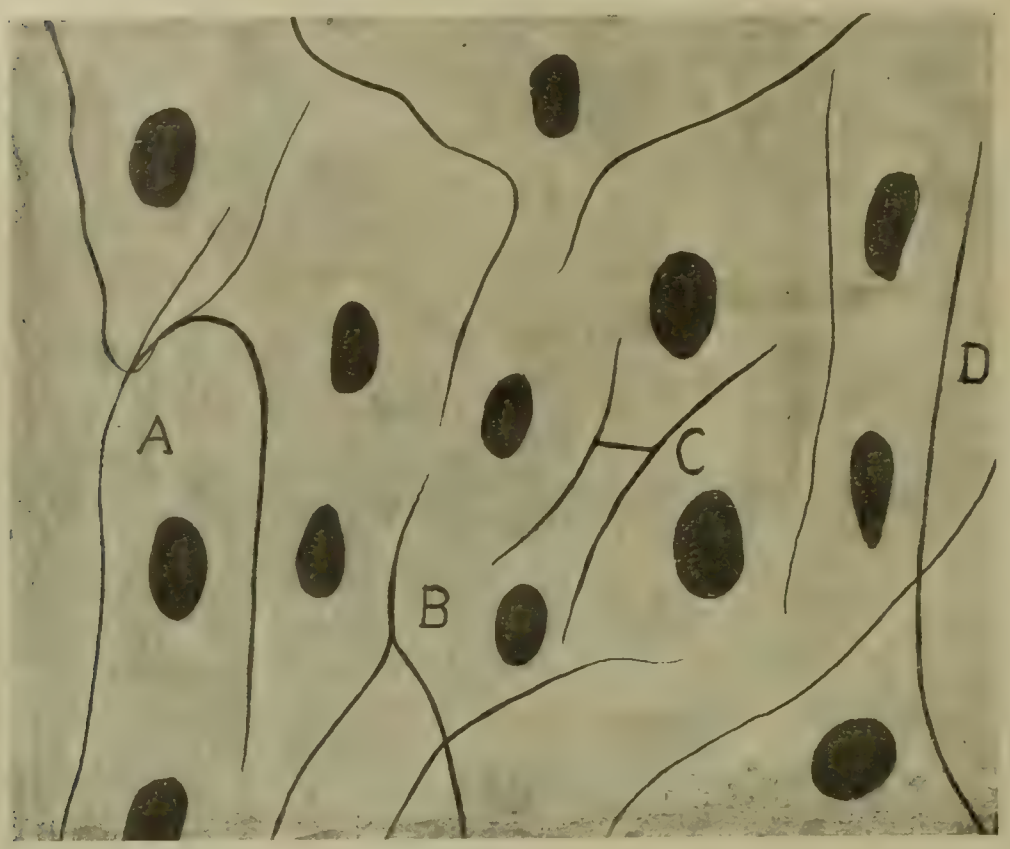

Fig. 9.—Histogénesis de las fibras elásticas en el cartílago vertebral de raya. A, B, C y D, aspecto de las fibras originadas, tangentes a los condroblastos; el contorno protoplásmico no ha sido representado por aparacer esfumado y ser difícil de delimitar. (Impregnación con el método de Achúcarro.)

Parécenos que dichas fibras —al menos en los selacios— pueden originarse de dos maneras distintas: una, por crecimiento y acoplamiento de ciertos granos que yacen entre los condroblastos, y otra, por metamorfosis complicadas de las células conjuntivas.

En la figura 9 representamos el aspecto que ofrecen estas fibrillas en el embrión de raya; unas de ellas están aisladas, mientras que otras se entrecruzan de modos diversos, como las *B* y *C*; a veces se acoplan por los extremos, como ocurre en *A*.

Es muy difícil pronunciarse sobre el origen de tales fibrillas, pero lo más probable parece suponerlas originadas por gránulos vivos segregados por los condroblastos, los cuales serían capaces de crecer, multiplicarse y evolucionar, dando lugar a las respectivas fibrillas.

En la figura 10 representamos otro aspecto del proceso de diferenciación de las fibrillas del cartílago; en ella pueden observarse ciertas «áreas de influencia» o zonas de crecimiento, es decir, territorios en donde dichas fibrillas se desarrollan de preferencia.

En *C* hay un conjunto de fibras anastomosadas, de las cuales unas son rectas y otras curvadas, existiendo no pocas en forma de tirabuzón. Es digno de llamar la aten-

ción el hecho de que en algunos sitios, como en *A*, las fibrillas se disponen tangentes a los condroblastos.

En la centrina recién nacida hemos sorprendido el proceso de diferenciación de las fibrillas a expensas de las células conjuntivas (cartílago vertebral) que experimentan curiosas metamorfosis, según hemos representado en la figura 11. El protoplasma de dichas células se deshilacha, dando lugar a fibrillas que emigran hacia los condroblastos vecinos, a los que frecuentemente rodean y envuelven, cual si ejerciesen una acción químiotáctica sobre las susodichas fibras, las cuales se orientan más perpendicularmente al eje mayor de la célula conjuntiva, que durante dicho proceso se estira de un modo extraordinario. Otras fibras que crecen en sentido perpendicular a las anteriores, al cabo de cierto tiempo se acoplan a las primeras o se bifurcan, dando lugar a nuevas ramas, cuyo destino será invadir la zona vecina de condroblastos, tal como acontece en *A B* y *C*. Es curiosa también la existencia de fibrillas en tirabuzón, las cuales suelen anastomosarse de mil modos diferentes con las anteriores.

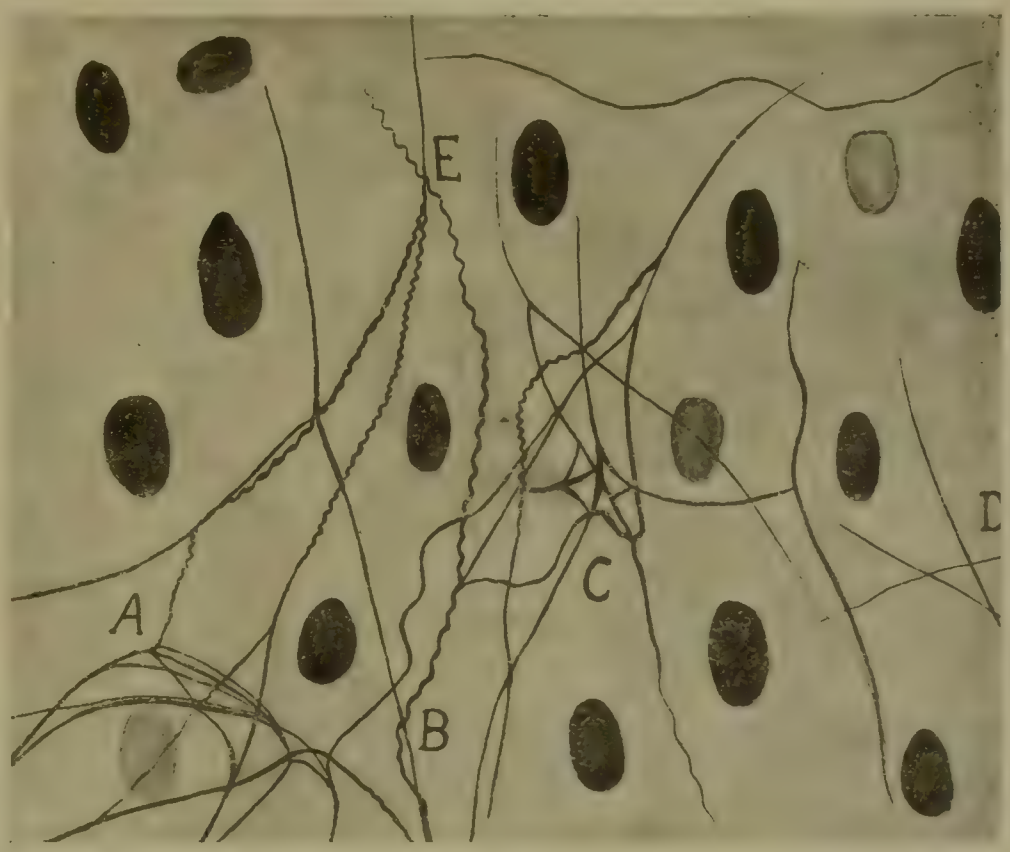

Fig. 10.—Histogénesis de las fibrillas elásticas en un embrión de raya. A, grupo de fibras anastomosadas rodeando un condroblasto; B y E, fibrilla de contorno espiral; C, grupo de fibrillas que dan lugar a un enrejado entre los condroblastos vecinos; D, tres fibrillas entrelazadas. (Primera variante del método de Achúcarro.)

Según Hansen, las sustancias condromucoides, embebiendo la colágena, hialinizan y enmascaran su estructura, que es francamente fibrillar; las fibrillas descritas por Tellmans, Greswell-Baber, Van der Stricht, etc., no serían sino aspectos de la textura de la colágena.

Nutrición del cartílago

En el período embrionario, las células del precartílago están anastomosadas, constituyendo un syncitium, conforme a la disposición general de los tejidos mesenquima-

tosos. En esta fase, que SPULER denomina cartílago celular, es lógico pensar que la materia nutricia camine de unas células a otras, gracias a los puentes protoplásmicos de los que han de ser futuros condroblastos (HEITZMANN).

A dichas células llegan las sustancias nutritivas por los vasos que surcan el cartílago embrionario en direcciones diversas.

Mas en el cartílago adulto, por desaparecer los vasos (al menos en gran parte) y

Fig. 11.—Transformación de las células conjuntivas en fibras, y sus relaciones con los condroblastos. A la izquierda hemos representado una de dichas células con diversas fibrillas en torno de ella. En la derecha, otra célula conjuntiva en metamorfosis más avanzada: A, B y C, anastomosis de varias fibras; D y E fibras longitudinales en progresivo crecimiento. (Centrina.)

las anastomosis de las prolongaciones protoplásmicas, no podemos explicarnos la nutrición del mismo conforme a las ideas de HEITZMANN, habiendo recurrido los investigadores a otras disposiciones estructurales para favorecer la irrigación de la materia cartilaginosa. Quienes, como ZUCKERKANDL, admiten que dichas sustancias caminarían por medio de las fibras conjuntivas; quienes, como BUDGE y ARNOLD, hablan de canales preestablecidos, a través de los cuales caminarían los susodichos líquidos, los cuales canales se pondrían en evidencia inyectando por los vasos sanguíneos azul de Prusia.

Nuestras ideas respecto a esta cuestión, concuerdan en absoluto con las defendidas por Budge y Arnold, ya que en el cartılago de los selacios se pone en evidencia, con relativa facilidad, un sistema de conductos que establecen la comunicación general entre las diferentes células cartilagíneas.

Se pueden obtener de dichos canales imágenes positivas y negativas; mediante el método de Cajal, se impregnan los canales, depositándose el nitrato argéntico en su interior; con el proceder de Río-Hortega se logran imágenes negativas de dichos conductos, según vió dicho histólogo en el cartílago de los cefalópodos, y hemos comprobado nosotros en el de los peces.

Nuestras observaciones han recaído principalmente en la centrina recién nacida (en el cartílago craneal), en donde aparecen según representamos en la figura 12 (lám. II), y en donde se sorprenden caminando de unos condroblastos a otros; dichos canales desembocan en la cavidad del condroplasto o pasan tangentes al mismo, anastomosándose muy frecuentemente en su trayecto o en su terminación. Pero lo que más llama la atención es su curso casi rectilíneo y su disposición, sensiblemente paralela, según puede notarse en la figura de que hablamos. Algunos de dichos canales pasan tangentes a la pared del condroblasto, no siendo raro en ocasiones hallar alguno que le rodee en v.

En términos generales, la disposición de dichos canales está supeditada a la forma de las células cartilaginosas: en aquéllas redondeadas, como *G* y *H*, suelen abocar radialmente, mientras que en los condroblastos fusiformes u ovoideos no es raro sorprender su terminación en los extremos afilados del condroplasto, es decir, según el eje mayor de la célula.

Aunque los citados canales no llegan a la célula cartilaginosa, ésta se encuentra bañada por el líquido nutricio, recordando completamente el medio ambiente que tienen dichas células en el cartílago más primitivo que conocemos, el que exhiben los tentáculos de la *Tubularia indivisa*, celentéreo del mayor interés, por poseer en sus tentáculos ciertos condroblastos estrellados de origen endodérmico, bañados por el líquido nutricio general.

En los selacios en torno de los vasos aparecen los canales plasmáticos en una época relativamente temprana. En los embriones de raya los hemos sorprendido, según representamos en el dibujo adjunto (fig. 13), distribuídos radialmente, y a veces muy apretados, según direcciones determinadas, los unos a los otros. Esta disposición, indudablemente, no tiene otra finalidad que la conducción de los jugos nutricios, conducción que será mantenida por la diferencia de presión osmótica de los condroblastos.

En la misma figura puede verse la notable disposición que adoptan los condroblastos marginales *A* situados en el borde mismo del vaso.

Reinan algunas discrepancias entre los histólogos sobre la significación de estos canales, no faltando algunos (Hansen, Retterer) que niegan su existencia. Sin embargo, después de las descripciones de Budge y Arnold, que han inyectado dichos canales con azul de Prusia; de los estudios de dichas vías llevados a cabo por Cajal, Spronck, Bubnoff y Spina con métodos de tinción diferentes; de las precisas imágenes obtenidas por

Del Río-Hortega con ayuda de su propio método, es imposible sostener dicha tesis, conviniendo nosotros, de acuerdo con nuestro maestro Cajal, en estimarlas como vías plasmáticas o cordones porosos, a través de los cuales se verifica el acarreo de las sustancias destinadas a ser asimiladas por los condroblastos.

Según Río-Hortega, dichos canales carecen de paredes propias, por estar labrados

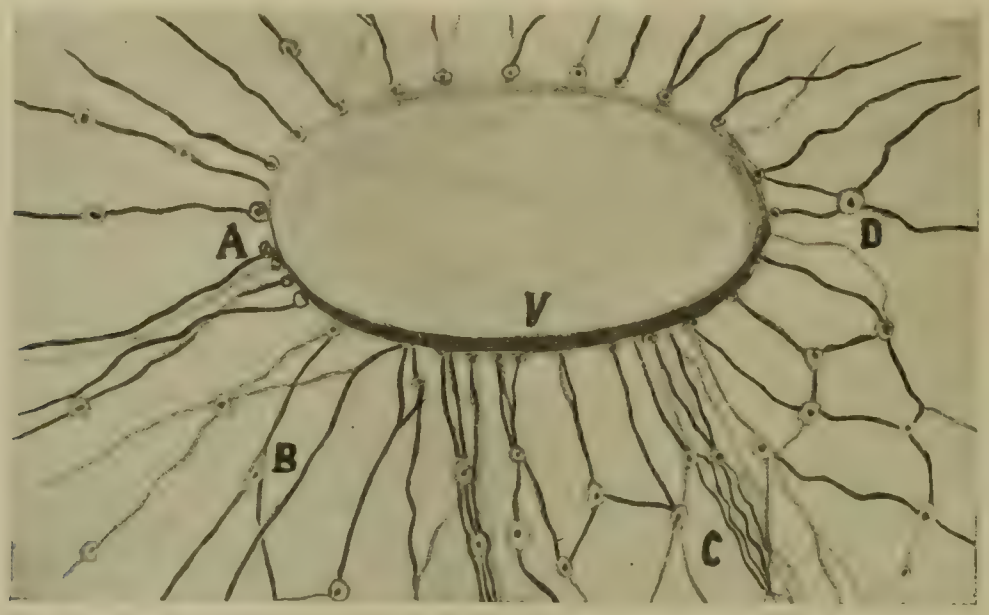

Fig. 13.—Vías plasmáticas o canales permeables en torno de un vaso, impregnados con el método del formol-urano de Cajal. A, terminación de los canales en los condroblastos periféricos; B, C y D, condroblastos en los que se reúnen varios conductos permeables. (Cartílago cefálico de un embrión de *raya.*)

en los estrechos y virtuales espacios que separan a los haces de fibras condrígenas, constituyentes únicos de la materia fundamental. A su carácter de verdaderas hendiduras —dice dicho histólogo— más que de conductos o de fibras, se debe que en las secciones transversales sean invisibles sus cabos.

Bibliografía

Edner (V.)—Die Chorda dorsalis der niederen Fischen und die Entwicklung des fibrillären Bindegewebes. Zeitschr. f. wiss. Zoologie Bd 62. 1897.

Flemming (W.).—Über die Entwicklung der collagenen Bindegewebesfibrillen bei Amphibien und Säugetieren. Arch. f. Anatomie und Physiol, 1897.

Ferguson (S.).—The application of the silver impregnation method of Bielchowsky to reticular and other conective tissus. The Amer. journ. of Anat. V 12, 1912.

Golowiniski (J.).—Zur Kenntniss der Histogenese der Bindegewebesfibrillen. Anat. Hefte Bd 22, 1907.

Hansen (Fr.).—Untersuchungen über die gruppe der Bindesubstanzen I Der Hyalinknorpel. Anat. Hefte Bd 27, 1905.

Korff.—Zur Histologie und Histogenese des Bindegewebes. Ergebnisse Anat. und Entwgesch Bd XVII, 1907.

Laguesse (E.).—Sur l'histogénèse de la fibre collagène et de la substance fundamentale dans la capsule de la rate chez les Sélaciens. Arch d'anat. micr. T 6, 1903.

Lwolff (B.).—Über die Entwicklung der fibrillen des Bindegewebes. Sitzungsber. d. Kais. Akad. d. wiss. in Wien. Bd 98, 1889.

Merkel (Fr.).—Betrachtungen über die Entwicklung des bindegewebes Anat. Hefte. Bd 38, 1909.

Müller (E.).—Über die Entwicklung der nerven und muskeln in der Brustflosse und Körperwand bei Acanthias vulgaris. Anat Hefte Bd 43, 1910.

— Untersuchungen uber ein faseriges stuzgewebe bei den Embrionen von Acanthias vulgaris. Kunggl Svenska Vetenskapsacademiens Handlingar Bd 49.

Ramón y Cajal.—Algunas variaciones fisiológicas y patológicas del aparato reticular de Golgi. Trabajos del Laboratorio de Investigaciones biológicas, 1916.

Röthing (P.).—Entwicklung des elastischen Fasern, Ergebnisse Anat und Entwicklgesch. Bd 17, 1903.

Spuler (A.).—Beiträge sur Histologie und Histogenese der Bindegewebes fibrillennetzen. Anat Anz Bd 36, 1910.

Studnicka.—Über enige Grundsubstanzgewebe. Anat. Anz Bd 31, 1907.

Schaffer (S.).—Über den feinere Bau und die Entwicklung das Knospelige Skelett von Ammocœtes branchialis. Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd 61, 1896.

ARTES
GRÁFICAS
MATEU
M. DE CUBAS, 3
MADRID